

Prüfung einer Korrelation
zwischen EDTA-hemmbarer und nicht hemmbarer
Serum-Paraoxonaseaktivität bei 162 Vietnamesen

von

Christine Hieronimus
aus

Erlangen

1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. H. B. Wuermeling

Prüfung einer Korrelation
zwischen EDTA-hemmbarer und nicht hemmbarer
Serum-Paraoxonaseaktivität bei 162 Vietnamesen

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Christine Hieronymus

aus

Erlangen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. V. Becker

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.1981

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. EINLEITUNG	4
II. HEMMUNG DER PARAOXON-SPALTUNG	13
III. PROBLEMSTELLUNG	17
IV. ANTHROPOLOGISCHE EINORDNUNG DES UNTERSUCHTEN VIETNAMESISCHEN KOLLEKTIVS IN DIE RASSEN- SYSTEMATIK DER MENSCHHEIT	17
V. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	22
1) <u>Probanden</u>	22
2) <u>Gewinnung und Aufbewahrung der Seren</u>	22
3) <u>Methodik</u>	22
a) Messung der Paraoxonaseaktivität ohne Zusatz von EDTA	23
b) Messung der Paraoxonaseaktivität in Gegenwart von EDTA	25
4) <u>Ergebnisse</u>	25
VI. AUSWERTUNG DER UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	32
VII. DISKUSSION	36
VIII. LITERATURVERZEICHNIS	38

I. EINLEITUNG

Die Alkylphosphate, zu denen Parathion (E 605, O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-thiophosphat, siehe Abb. 1) gehört, sind organische Phosphorsäureester, die auch heute noch, hauptsächlich als Schädlingsbekämpfungsmittel, weltweit verwendet werden.

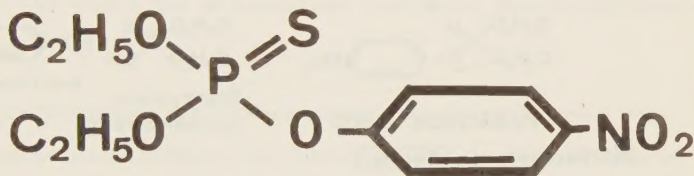


Abb. 1 E 605 (Parathion; Nitrostigmin; O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-thiophosphat)

Die unsachgemäße Anwendung dieses Präparates kann beim Menschen schwere Vergiftungserscheinungen hervorrufen. Die Resorption von Parathion erfolgt sowohl per inhalationem als auch bei peroraler oder perkutaner Applikation sehr schnell. Die gute Lipidlöslichkeit ist eine wichtige Voraussetzung für den schnellen Eintritt der toxischen Wirkung.

In Abb. 2 sind die bisher bekannten Umsetzungen von Parathion im Stoffwechsel dargestellt.

Stoffwechsel von PARATHION im Warmblüter

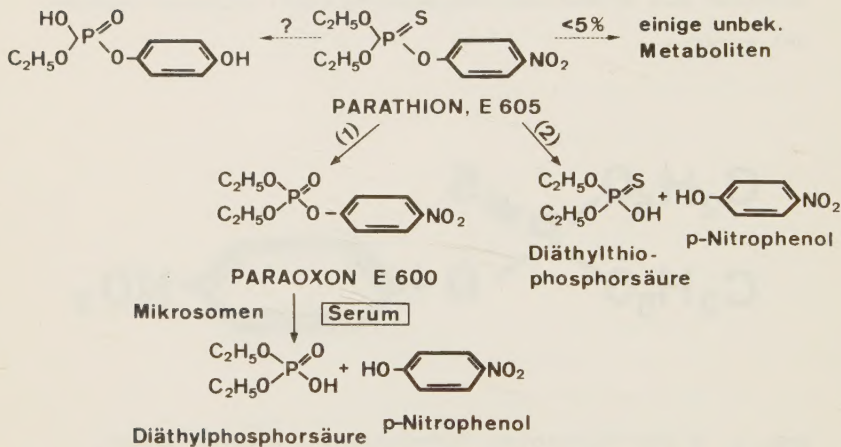


Abb. 2

Aus dem nur gering toxischen Parathion entsteht im Organismus durch Austausch des Schwefelatoms ($-\text{P}=\text{S}$) gegen ein Sauerstoffatom ($-\text{P}=\text{O}$) das hochgiftige Paraoxon (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat), der eigentliche Cholinesterase-inhibitor und damit Giftstoff (NEAL 1971, POORE und NEAL 1972).

Paraoxon (E 600) gehört zu den sogenannten irreversiblen Cholinesterasehemmern. E 600 tritt an die gleichen Rezeptoren der Cholinesterase wie Acetylcholin. Anschließend wird durch Phosphorylierung der esteratischen Seite das Enzym blockiert, wodurch der Abbau des körpereigenen Acetylcholin verhindert wird. Dies führt zu einem Überangebot von Acetylcholin an den cholinergen Synapsen sowie den motorischen Endplatten und den postganglionären parasymphatischen Nerven und damit zur sogenannten endogenen Acetylcholinvergiftung.

Bei Alkylphosphatvergiftungen kommt es je nach Dosis zu Krankheitserscheinungen mit nikotin- und muskarinähnlicher Symptomatik (MOESCHLIN 1972).

ALDRIDGE entdeckte (1953 a,b) im Serum verschiedener Warmblüter ein Paraoxon hydrolysierendes Enzym, die "Paraoxonase", das nach seinen Untersuchungen mit der aromatische Ester (z.B. p-Nitrophenylacetat) spaltenden sogenannten A-Esterase (Arylesterase, EC.3.1.1.2.) identisch war.

MAIN (1960 a,b) konnte nachweisen, daß aus Schafserum gereinigte Paraoxonase zwar Paraoxon, jedoch nicht Phenylacetat hydrolysiert.

KRISCH entwickelte 1968 einen einfachen photometrischen Test zur Bestimmung der Paraoxonaseaktivität und fand damit bei Untersuchung von 50 Probanden zwei sich überlagernde

Populationsgruppen mit niedriger und hoher Aktivität, was möglicherweise genetisch bedingt sei.

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT und Mitarb. (1973 b) bewiesen, daß die menschliche Serum-Paraoxonase ein sehr spezifisches Enzym ist, das schon auf geringfügige Veränderungen am Substratmolekül reagiert.

Gleichfalls 1973 zeigten GELDMACHER-v.Mallinckrodt und Mitarb. (1973 a) an 35 Familien mit 52 Kindern, daß menschliches Serum ein Enzym enthält, das aus Paraoxon p-Nitrophenyl abspaltet und einen Polymorphismus aufweist, der wahrscheinlich genetisch determiniert ist und einem einfachen 2-Allele-Modell folgt.

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, HOMMEL und DUMBACH (1979) stellten für ein großes westdeutsches Kollektiv (799 nicht verwandte Personen, 100 Familien mit 180 Kindern) die mit der Anti-ChE-Technik gewonnenen Daten zusammen. Es ergaben sich drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Paraoxonaseaktivität im Verhältnis 57 : 36 : 6 (Abb. 3).

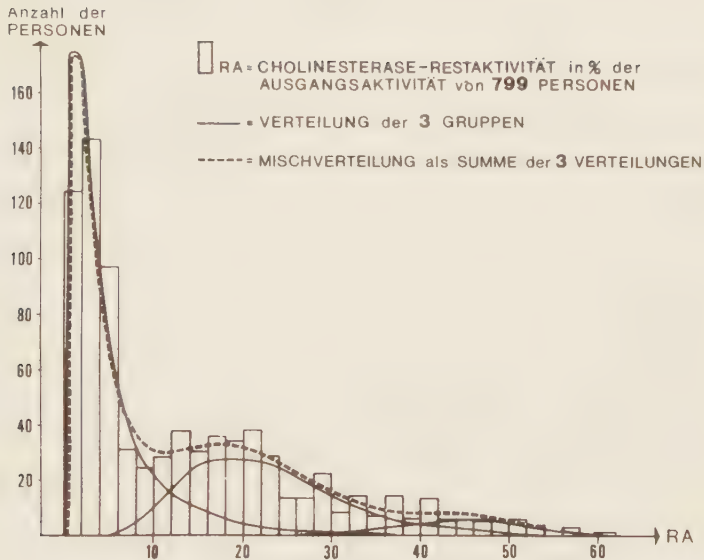


Abb. 3 Verteilung der Paraoxonaseaktivität, gemessen über die Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600, bei 799 Westdeutschen

(Anti-ChE-Technik, DUMBACH 1976)

Das 2-Allele-Modell wurde auch von KRISCH (1968) sowie von ZECH und ZÜRCHER (1974) und DUMBACH (1976) angenommen.

PLAYFER und Mitarb. (1976) bestätigen dieses Modell sowie das Verteilungsmuster für britische Probanden und Inder. Die Verteilung für das indische Kollektiv kann ethnologisch erklärt werden, da weite Teile Indiens in der Klassensystematik der Menschheit der Indiden Rasse zugeordnet werden, welche der Europiden Großrasse untergeordnet ist (SCHWIDETZKY 1974).

Weitere Untersuchungen anderer ethnischer Gruppen, nämlich Malaier, Nigerianer, Chinesen und Kenianer führten zu anderen Ergebnissen (siehe Abb. 4 - 7).

Die Untersuchung eines japanischen Kollektivs (n= 267) durch OMURO (1980) zeigte eine Abweichung von der westdeutschen bzw. britischen Verteilung, nämlich eine sehr starke mittlere Aktivitätsgruppe, die an das Vorliegen mindestens eines weiteren Allels denken läßt (Abb. 8).

Abb. 4

Verteilung der Paraoxonaseaktivität
bei 178 Nigerianern
(nach PLAYFER et al. 1976)

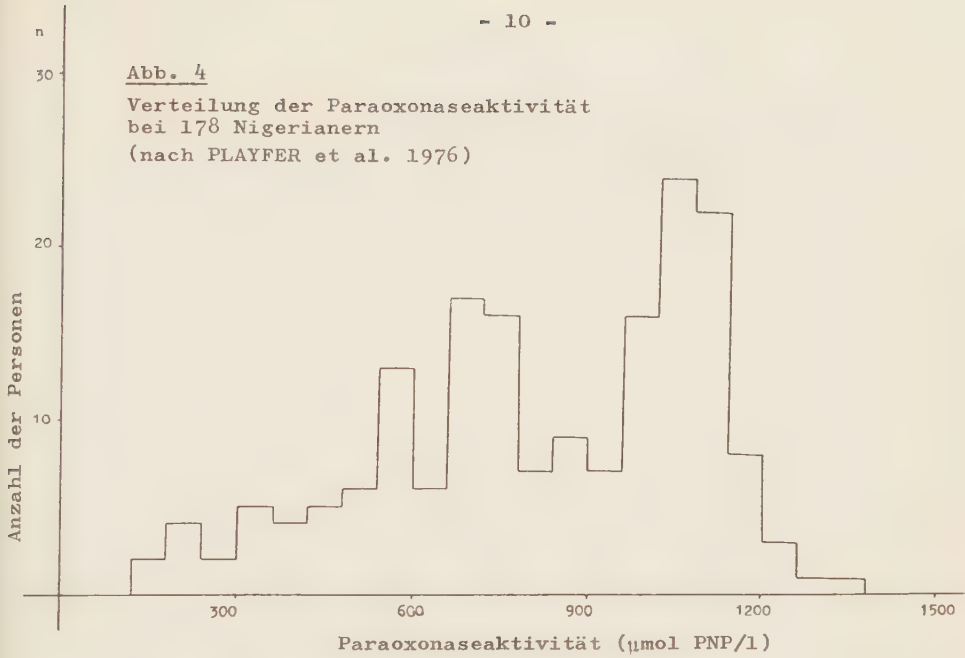


Abb. 5

Verteilung der Paraoxonaseaktivität
bei 71 Malaien
(nach PLAYFER et al. 1976)

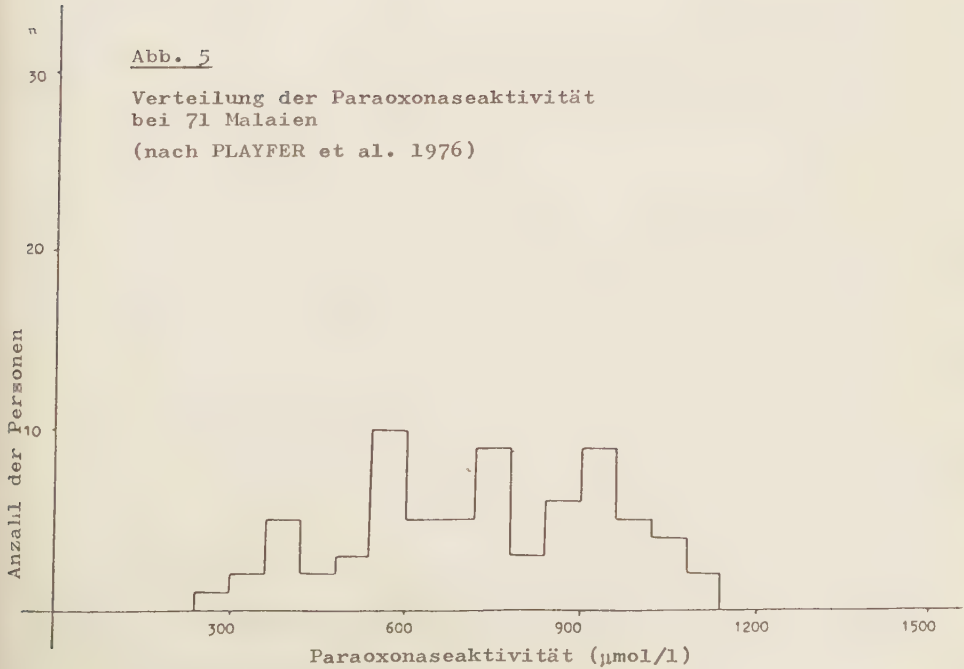


Abb. 6

Verteilung der Paraoxonaseaktivität
bei 28 Kenianern

(nach PLAYFER et al. 1976)

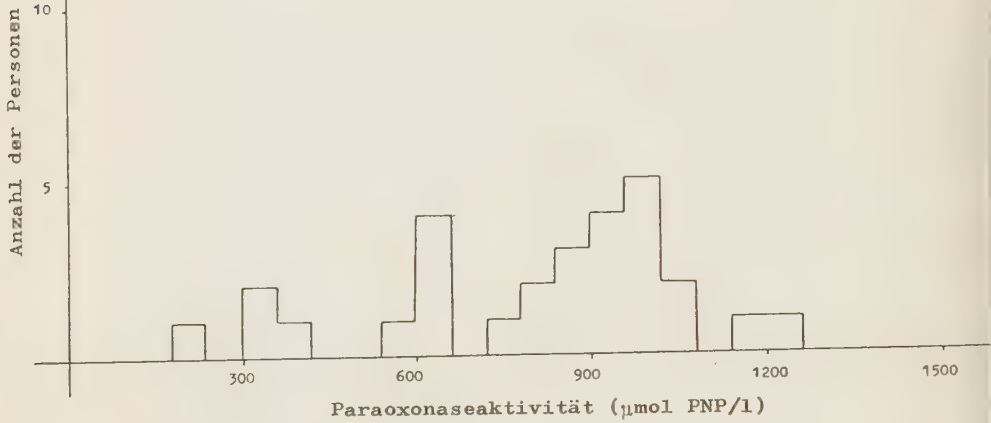


Abb. 7

Verteilung der Para-
oxonaseaktivität bei
249 Chinesen (nach
PLAYFER et al. 1976)

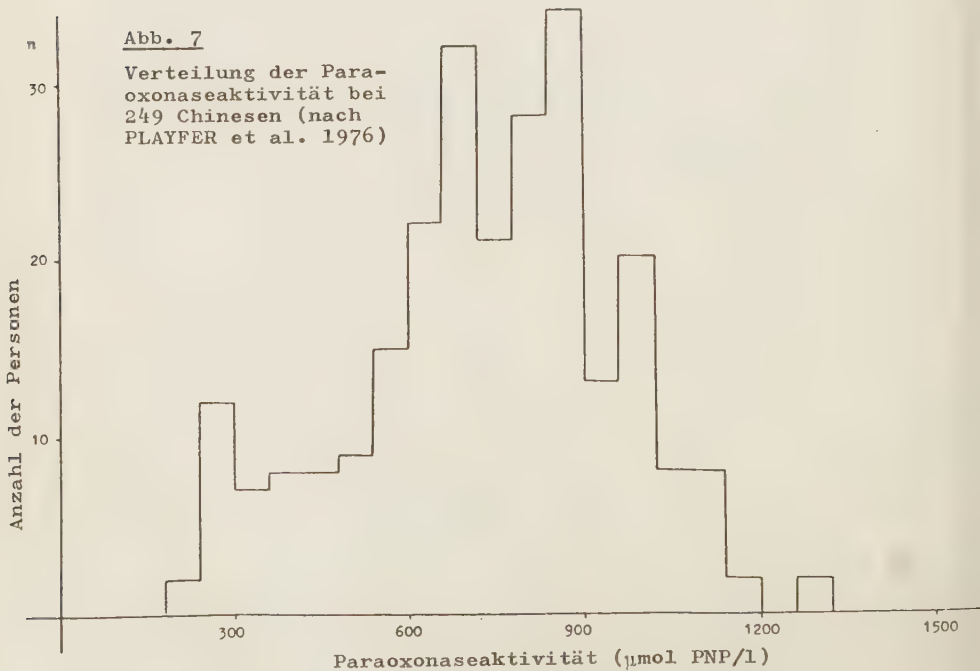
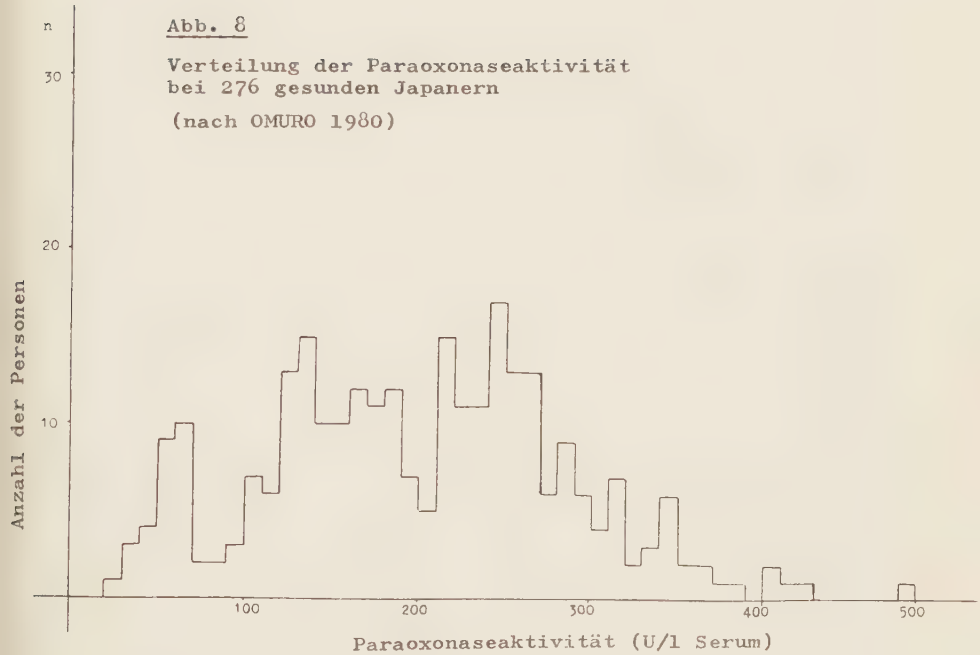


Abb. 8

Verteilung der Paraoxonaseaktivität
bei 276 gesunden Japanern
(nach OMURO 1980)



II. HEMMUNG DER PARAOXON-SPALTUNG

Schon 1959 hatten ERDÖS, DEBAY und WESTERMANN beobachtet, daß bei Blutproben nach Zugabe von EDTA (Äthylendinitrilotetraessigsäure) zur Verhinderung der Blutgerinnung die Arylesterase gehemmt wird, ohne daß dabei die Cholinesterase beeinträchtigt wird.

MARTON und KALOW (1960) berichteten über eine solche Hemmung eines Enzyms, das wohl mit der Paraoxonase identisch war. Hierbei wurde die Paraoxonase bei einer EDTA-Konzentration von 5×10^{-5} Mol vollständig blockiert.

ERDÖS und BOGGS (1961) hatten nach Zugabe von EDTA im menschlichen Serum in der Cohn-Fraktion IV-I und V unterschiedliche Restaktivitäten der Arylesterase bestimmt: die Aktivität in Fraktion IV-I wurde vollständig gehemmt, die in Fraktion V nicht beeinträchtigt.

KRISCH (1968) untersuchte den Einfluß einer Reihe von Inhibitoren auf die E 600-Spaltung durch menschliches Serum und hob dabei die Empfindlichkeit der Paraoxonase gegen Chelatbildner, insbesondere EDTA, hervor. Die Hemmbarkeit durch EDTA ließ an eine Abhängigkeit der Serum-Paraoxonase von Ca^{2+} denken, wobei bei Zugabe von EDTA letzteres als Ca^{2+} -Fänger fungiert.

Die Inhibitoren, die KRISCH (1968) untersuchte, sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Einfluß einiger Inhibitoren auf die enzymatische Spaltung von E 600 durch Serum
(nach KRISCH 1968)

Inhibitor	End- konzentration (M)	Aktivität in % der Ausgangs- aktivität	$\pm$ s
Diisopropylfluorophosphat	10^{-4}	85	6,1
	10^{-5}	92	2,9
Physostigmin	10^{-3}	92	3,7
	10^{-4}	93	3,3
Chinin-HCl	10^{-3}	51	10,9
	10^{-4}	96	3,4
Atoxyl	10^{-3}	95	3,6
	10^{-4}	100	1,0
Natriumfluorid	10^{-3}	102	10,3
	10^{-4}	97	6,7
p-Chloromercuribenzoat	10^{-4}	59	24,9
	10^{-5}	90	3,4
Bathocupreindisulfonsäure	10^{-3}	60	14,9
	10^{-4}	78	9,4
o-Phenanthrolin	10^{-3}	88	4,1
	10^{-4}	94	3,6
8-Hydroxychinolin	10^{-3}	62	9,4
	10^{-4}	68	10,4
EDTA	10^{-3}	45	13,6
	10^{-4}	53	15,6

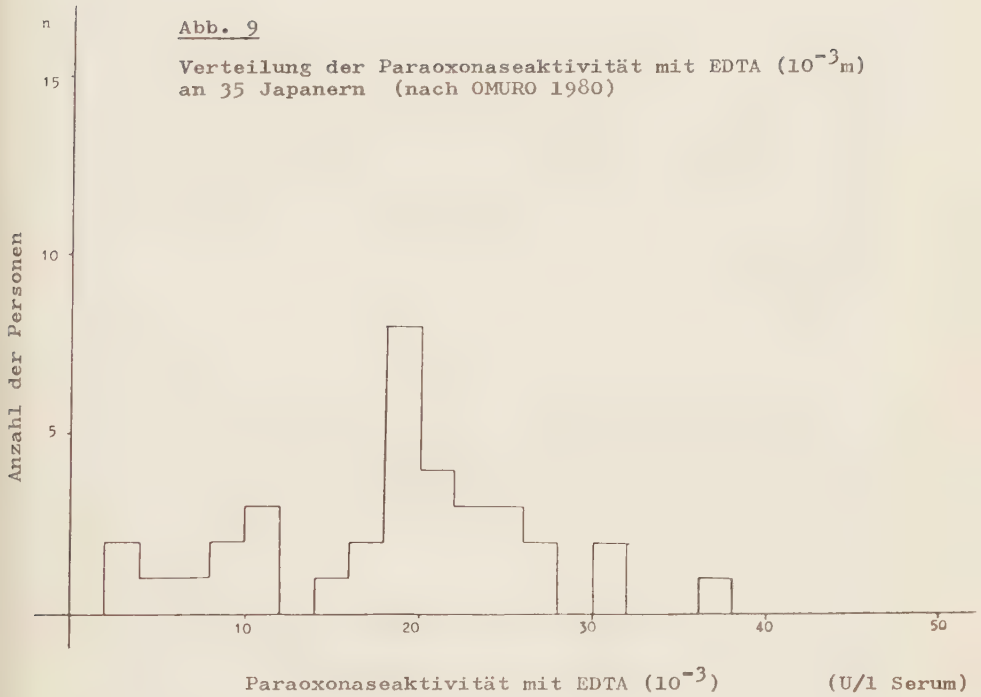
MENZEL (1978) wies auf weitere Substanzen hin, die die Aryl-esterase hemmen. Dazu gehören: Jodacetamid, o-Jodobenzoat, p-Chlormercuribenzoessäure, p-Chlormercuriphenylsulfonsäure, Schwermetallionen, Na-Ionen in hoher Konzentration, Harnstoff, Guanidinhydrochlorid, Versen, Methanol, Glykolmonomethyläther, Aceton, Schwefelverbindungen, Phosphorsäure-ester, Aldrin und einige Medikamente.

HECHTEL (1980) konnte an je 5 westdeutschen Personen mit niedriger, mittlerer und hoher Paraoxonaseaktivität bestätigen, daß bei einer Konzentration von 10^{-3} m EDTA im Meßansatz nach KRISCH (1968) ein Abfall der Paraoxon hydrolysierenden Aktivität auf einen mit EDTA nicht hemmbaren Anteil von etwa 20 - 45 U/l eintritt. Bezüglich dieser Restaktivität war zwischen den drei Aktivitätsgruppen kein Unterschied festzustellen.

OMURO (1980) fand an 35 japanischen Probanden aus dem Bereich der niedrigen, mittleren und hohen Aktivität keine Korrelation ($r = + 0,0182$) der Paraoxonaseaktivitäten, gemessen ohne und mit EDTA (10^{-3} m) im Meßansatz. Das Histogramm der Aktivitäten nach EDTA-Hemmung zeigte angenäherte Normalverteilung (siehe Abb. 9).

Abb. 9

Verteilung der Paraoxonaseaktivität mit EDTA (10^{-3} m)
an 35 Japanern (nach OMURO 1980)



III. PROBLEMSTELLUNG

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, die Ergebnisse von OMURO (1980) an einem größeren asiatischen, in diesem Fall einem vietnamesischen Kollektiv zu prüfen, da auch für das nicht durch EDTA hemmbare Enzym Unterschiede bei unterschiedlichen ethnischen Gruppen möglich erscheinen und OMURO nur 35 Seren mit EDTA prüfte.

IV. ANTHROPOLOGISCHE EINORDNUNG DES UNTERSUCHTEN VIET- NAMESISCHEN KOLLEKTIVS IN DIE RASSENSYSTEMATIK DER MENSCHHEIT

Um die morphologische Variabilität der heutigen Menschheit darzustellen, sind besonders zwei Begriffe wichtig: Art und Rasse. Die Art (Spezies) wird allgemein definiert als die Gesamtheit aller fruchtbar untereinander kreuzbaren Individuen. Egon Freiherr von EICKSTEDT (1937), einer der Begründer der traditionellen Systematik, beschreibt Rassen (Subspezies) als ein Kollektiv von Individuen mit gleichen Merkmalskombinationen, also als eine Unterabteilung der Art: "Rassen sind natürliche zoologische Formengruppen innerhalb der Hominiden, deren Angehörige eine mehr oder minder kennzeichnende Vereinigung von normalen und erblichen

Merkmale der Gestalt und Verhaltensweise zeigen" (SCHWIDETZKY 1979).

Diese idealisierte typologische Definition, die hauptsächlich von äußeren Merkmalen, wie Schädelform, Körperbau und Pigmentation ausgeht, wird heute von populationsgenetischen Rassendefinitionen weitgehend abgelöst.

"Rasse - eine genetisch mehr oder weniger isolierte Gruppe von Menschen, die einen gemeinsamen Gen-Bestand aufweisen, der von dem aller anderen ähnlichen Isolate verschieden ist" (SCHWIDETZKY 1979). Hierzu werden Rassenmerkmale mit möglichst monofaktoriellem Erbgang herangezogen, wie beispielsweise: Blutgruppen, Blutfaktoren, Serumproteine usw.. Sie erfüllen zudem alle Forderungen, die man an Rassenmerkmale stellen kann: sie sind sicher bestimmbar, erblich, umweltstabil und variieren geographisch (SCHWIDETZKY 1979).

Beispielsweise unterschied BOYD (1956) aufgrund der drei in ihrer geographischen Variabilität am besten bekannten serologischen Systeme ABO, MN und Rh drei Rassen in Asien: asiatische, indodrawidische und indonesische Rasse. Bei der asiatischen fand er: "Viel A_1 und B, wenig oder gar kein A_2 ; sehr wenig cde (r); normale MN-Verteilung, S relativ selten; mehr Fy^a als in Europa, K selten." Die serologische Klassifikation der indonesischen Rasse ergab: "In der Regel viel A_1 und B, kein A_2 ; M zwischen 0,6 und 0,4; S vorhanden;

es scheinen nur 4 Rh-Typen aufzutreten, nämlich CDe (R_1), cDe (R_2), cDe (R_0) und CDe (R_Z) mit starkem Überwiegen von R_1 .

"Beiden Arbeitsweisen, der typologischen und der populationsbiologischen, gemeinsam ist die Erfahrung, daß es eindeutige Gruppierungen unterhalb des Artniveaus nicht gibt" (SCHWIDETZKY 1979).

Dies und die früher rein typologische Beschreibung einer Rasse führte zu einer Vielzahl von Rassenklassifikationen. Ein großer Teil der neueren Klassifikationen schließt jedoch insofern unmittelbar an die älteren an, als die typologische Methode eine wesentliche Grundlage bleibt (SCHWIDETZKY 1974).

In einer Grobeinteilung der drei sogenannten Rassenkreise oder Großrassen besteht jedoch bis heute weitgehende Übereinstimmung (SCHWIDETZKY 1962). Man unterscheidet:

(1) Europide:

Gemeinsame Merkmale sind ein reliefreiches Gesicht, schlichtes bis lockiges Kopfhaar, eine schmale, hohe Nase und die Tendenz zur Aufhellung der Körperpigmentation (GLOWATZKI 1976).

(2) Negride:

Sie zeigen starke Hautpigmentierung, engspiraliges

kurzes Haar (Kraushaar), breite Nase, Prognathie und dicke Schleimhautlippen (SCHWIDETZKY 1974).

(3) Mongolide:

Gemeinsame morphologische Merkmale sind ein flaches Mittelgesicht mit niedriger Nasenwurzel, vorgeschobenen Wangenbeinen und flachliegender Lidspalte, schwere Deckfalte und "Mongolenfalte" (Nasenlidfalte), dickes schwarzes Haar und Gelbton der Haut (SCHWIDETZKY 1974).

Die Mongoliden unterteilt v. EICKSTEDT (1934) weiter in:

- Tungide
- Sibiride
- Sinide
- Palämongolide

Bei dem von uns untersuchten Kollektiv handelt es sich um Vertreter der beiden letztgenannten Rassen, nämlich: Sinide und Palämongolide, die v. EICKSTEDT (1934) wie folgt beschreibt: "Sinide zeigen einen für Mongolide hohen, schlanken Wuchs, langen Kopf, hohes Gesicht und schmale Nase. Die mongolide Flachgesichtigkeit ist nicht sehr ausgeprägt. Hochwuchs und Langgesichtigkeit nehmen jedoch in Nord-Süd-Richtung ab. Haar und Pigment zeigen keine Abweichung von der Großrasse. Das Hauptverbreitungsgebiet der Siniden sind die fruchtbaren Lössböden Chinas.

Palämongolide finden sich in Südchina und Hinterindien, in Indonesien bis an die Grenze von Neuguinea und auf der ostasiatischen Inselkette bis nach Nordjapan. Sie gelten als kleinwüchsig und grazil mit niedrigem runden Gesicht, breiter Nase, vollen Lippen und kleinem fliehenden Kinn. Die Stirn ist steil, die Mongolenfalte wenig ausgeprägt. Insgesamt wirken sie pädomorph."

Da die von uns hinsichtlich der Paraoxonaseaktivität des Serums untersuchten Vietnamesen entweder chinesischer oder vietnamesischer Abstammung sind, kann man sie mit hoher Wahrscheinlichkeit den beiden obengenannten Rassen zuordnen.

V. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1) Probanden

Bei dem von uns untersuchten Kollektiv handelt es sich um 162 Vietnamesen: Männer, Frauen und Kinder, bei denen aufgrund der Namen teilweise familiäre Beziehungen anzunehmen sind. Knapp die Hälfte davon dürften nicht verwandte Einzelpersonen sein. Es handelt sich dabei um Vietnamesen, meist chinesischer Abstammung, die 1979/80 in die Bundesrepublik einwanderten.

2) Gewinnung und Aufbewahrung des Serums

Die Blutproben dieser Personen wurden bei der Erstuntersuchung in der Bundesrepublik gewonnen. Dabei wurde mit Monovetten Blut aus der Armvene entnommen und nach Eintritt der Gerinnung das Serum abzentrifugiert. Dieses wurde entweder einige Tage gekühlt aufbewahrt und danach gleich die Paraoxonaseaktivität bestimmt, oder tiefgefroren und erst am Tage vor der Messung im Kühlschrank aufgetaut. Wie OMURO (1980) nachwies, tritt bei dieser Behandlung kein Aktivitätsverlust auf.

3) Methodik

Die Messung der Paraoxonaseaktivität erfolgte nach einem photometrischen Verfahren von KRISCH (1968), wobei das aus Paraoxon als Substrat in Freiheit gesetzte p-Nitro-

phenol in einem kinetischen Test gemessen wird.

a) Messung der Paraoxonaseaktivität ohne Zusatz von EDTA

Es wurden folgende Reagenzien verwendet:

- 0,1m Glyzin-NaOH Puffer pH 11,2
- E 600-Stammlösung ($1,2 \cdot 10^{-2}$ m E 600 in 0,1m Trispuffer)
- Trispuffer pH 8
- E 600 Gebrauchslösung
- Serumverdünnung

Die Reagenzien wurden folgendermaßen hergestellt:

- Glyzin-NaOH-Puffer:

5,844 g NaCl und 7,507 g Glyzin in aqua dest lösen und auf 1 l auffüllen. Anschließend mit 0,1 n NaOH auf pH 11,2 einstellen.

- E 600-Stammlösung:

0,26 ml E 600 mit Trispuffer auf 100 ml auffüllen und 10-15 min im Ultraschallbad lösen.

- Trispuffer pH 8:

12,114 g Tris (Tris-hydroxymethyl-amino-methan) in etwa 900 ml aqua dest auflösen und mit 0,1 n HCL auf pH 8,0 einstellen; anschließend mit aqua dest auf 1 l auffüllen.

- E 600-Gebrauchslösung

E 600 Stammlösung 1 : 5 mit dest. Wasser verdünnen und 10 min im Ultraschallbad lassen.

- Serumverdünnung:

Serum 1 : 5 mit 0,9 %iger Kochsalzlösung verdünnen.

- Ansatz:

In ein Reagenzglas werden pipettiert:

3,3 ml Glyzin-NaOH-Puffer

0,5 ml Serumverdünnung

1,0 ml E 600 Gebrauchslösung

Nachdem die einzelnen Lösungen im Wasserbad auf 25°C erwärmt wurden, wird der Ansatz in ein Reagenzglas pipettiert und mit einem Reagenzglasrüttler gemischt.

- Messung:

Die Extinktion wird bei 405 nm und $t = 25^{\circ}\text{C}$ 30 sec und 3 min nach dem Start der Reaktion am Photometer abgelesen. Die Extinktionsdifferenz $180\text{ s} - 30\text{ s}$ kommt zur Auswertung, wobei noch der unter entsprechenden Bedingungen gemessene Leerwert abgezogen wird (E 600 Hydrolyse im gleichen Milieu ohne Serum).

Berechnung:

Zur Umrechnung der Extinktionsdifferenz $\Delta E = E_{180} - E_{30}$ in nMol wird der molare Extinktionskoeffizient von p-Nitrophenol (in Glyzinpuffer pH 11,2 bei 405 nm = $18,05 \times 10^6 \text{ cm}^2 \text{ Mol}^{-1}$) zugrundegelegt; 10 nMol p-Nitrphenol gelöst in 1 ml hätten demnach bei $d = 1 \text{ cm}$ und $\lambda = 405 \text{ nm}$ eine Ex-

tinktion von 0,1805). Unter weiterer Berücksichtigung der Serumverdünnung (Umrechnung auf 1 ml Serum durch Multiplikation mit 10), der Meßzeit (Umrechnung auf 1 min durch Division durch 2,5) und des Ansatzvolumens (= 4,8 ml; Multiplikation mit 4,8) errechnet sich die Aktivität nach folgender Formel:

$$\begin{aligned}\text{Aktivität} &= \frac{\Delta E \cdot 10 \cdot 4,8 \cdot 10}{0,1805 \cdot 2,5} \\ &= \Delta E \cdot 1063 \text{ U/l Serum}\end{aligned}$$

b) Messung der Paraoxonaseaktivität unter Zusatz von EDTA

Diese Messung erfolgte wie unter a) beschrieben, jedoch enthielt der Glyzin-NaOH-Puffer (pH 11,2) EDTA in einer Konzentration von 10^{-3} m, wozu zusätzlich vor dem Einstellen des pH-Wertes mit NaOH 0,37224 g Titriplex III zugegeben wurde. Die Paraoxonaseaktivität aller 162 Serumproben wurde sowohl mit als auch ohne EDTA gemessen. Auch bei der Messung mit EDTA wurde der Leerwert abgezogen.

4) Ergebnisse

Die Serum-Paraoxonaseaktivität der 162 vietnamesischen Probanden ohne und mit EDTA-Zusatz ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2: Aktivität der Serum-Paraoxonase bei 162
vietnamesischen Probanden, gemessen ohne
und mit EDTA im Meßansatz

Name	Aktivität (U/l Serum)	EDTA 10^{-3} m Aktivität (U/l Serum)
1. H.G.	185,0	38,2
2. N.Q.	59,6	38,5
3. T.N.	169,6	37,7
4. L.H.	190,9	37,8
5. N.N.	228,5	35,6
6. N.T.	278,4	37,7
7. N.Q.	80,7	45,2
8. T.C.	52,7	21,1
9. N.T.	290,8	39,5
10. V.A.	76,5	30,7
11. L.T.	196,9	17,9
12. D.S.	159,1	30,0
13. D.S.	178,5	11,5
14. H.T.	191,3	27,3
15. L.D.	199,2	29,2
16. L.C.	256,1	31,7
17. V.V.	143,1	23,9
18. C.H.	159,4	11,2
19. V.N.	250,1	36,7
20. M.P.	104,7	39,2
21. M.S.	165,8	46,9
22. M.S.	120,8	29,8
23. H.D.	68,0	34,9
24. T.T.	275,2	49,5
25. N.T.	369,8	40,6
26. N.Q.	88,7	44,5

Name	Aktivität (U/l Serum)	EDTA 10 ⁻³ m
		Aktivität (U/l Serum)
27. N.T.	123,2	36,4
28. L.T.	300,7	17,2
29. N.P.	188,8	34,9
30. N.V.	144,5	33,5
31. C.D.	78,6	25,3
32. T.Q.	180,3	37,0
33. T.K.	198,4	30,3
34. H.P.	271,4	27,4
35. H.D.	196,1	38,8
36. H.T.	153,7	39,5
37. H.T.	192,7	37,3
38. M.H.	214,0	27,1
39. L.B.	194,1	20,0
40. L.T.	324,7	48,4
41. N.C.	258,3	46,6
42. T.D.	82,1	43,4
43. L.V.	199,7	36,1
44. H.M.	184,6	30,3
45. C.K.	332,7	40,6
46. Q.T.	291,7	39,9
47. N.T.	282,7	42,3
48. T.N.	187,0	36,7
49. T.V.	215,7	37,8
50. T.Q.	206,2	36,3
51. Q.N.	251,9	26,6
52. T.Q.	287,5	20,7
53. L.V.	232,7	36,3
54. T.T.	388,6	24,0
55. T.T.	309,6	36,3
56. T.K.	247,6	33,8
57. T.K.	219,3	27,4

Name	Aktivität (U/l Serum)	EDTA 10 ⁻³ m
		Aktivität (U/l Serum)
58. N.T.	221,0	38,3
59. T.T.	311,7	26,7
60. T.T.	63,0	23,2
61. T.T.	326,6	36,1
62. N.T.	341,2	29,2
63. C.T.	455,2	22,9
64. T.M.	180,1	37,0
65. T.T.	296,0	33,5
66. L.V.	193,9	34,0
67. T.Y.	154,1	39,4
68. L.T.	246,9	35,6
69. L.V.	206,2	21,2
70. D.T.	291,9	29,8
71. T.T.	200,5	30,3
72. T.N.	297,9	43,8
73. T.T.	166,9	38,1
74. N.T.	197,1	37,8
75. L.T.	230,2	19,1
76. T.D.	317,1	42,0
77. V.Q.	309,2	35,6
78. N.T.	263,1	38,8
79. T.T.	246,2	29,8
80. V.X.	236,0	47,3
81. V.C.	262,0	47,3
82. V.T.	279,5	38,8
83. T.H.	218,6	27,6
84. B.X.	65,1	36,1
85. T.T.	146,7	46,8
86. T.H.	186,5	48,4
87. T.T.	153,4	26,4
88. T.H.	142,0	36,7

Name	Aktivität (U/l Serum)	EDTA 10 ⁻³ m
		Aktivität (U/l Serum)
89. Q.M.	143,5	39,5
90. T.H.	142,4	6,3
91. N.B.	181,7	43,1
92. T.V.	268,9	34,5
93. W.D.	203,3	41,0
94. N.C.	257,5	36,1
95. T.V.	134,9	35,1
96. T.T.	102,5	26,6
97. V.V.	162,6	42,3
98. L.A.	248,7	26,6
99. T.V.	106,6	30,3
100. T.V.	145,0	37,8
101. P.T.	139,2	53,7
102. T.N.	70,5	33,5
103. L.C.	142,8	35,1
104. M.P.	218,9	41,0
105. L.T.	266,1	39,6
106. N.T.	155,5	35,6
107. T.P.	212,9	33,2
108. T.V.	239,1	35,1
109. M.C.	317,4	39,2
110. M.T.	167,2	10,8
111. N.P.	178,5	44,2
112. N.H.	293,7	44,9
113. T.T.	299,2	49,5
114. L.D.	332,2	42,6
115. H.K.	305,0	38,8
116. L.T.	270,0	35,6
117. N.X.	199,8	36,7
118. V.T.	79,7	34,0
119. P.P.	72,6	36,2

Name	Aktivität (U/l Serum)	EDTA 10 ⁻³ m
		Aktivität (U/l Serum)
120. L.V.	293,4	35,6
121. H.G.	192,4	42,0
122. T.L.	171,6	42,6
123. T.L.	233,8	33,0
124. D.T.	130,0	33,0
125. T.V.	209,8	20,8
126. V.K.	166,5	45,2
127. T.H.	192,4	52,7
128. T.I.	183,9	37,2
129. L.V.	148,1	30,9
130. L.V.	277,9	28,2
131. L.T.	66,4	34,0
132. D.T.	86,6	30,5
133. T.L.	246,2	27,7
134. P.M.	232,8	31,4
135. T.T.	229,9	29,8
136. P.T.	239,1	43,6
137. P.N.	150,4	43,3
138. L.T.	155,7	44,7
139. T.T.	264,3	37,2
140. L.T.	242,7	33,5
141. T.N.	152,5	42,6
142. L.H.	228,0	33,0
143. L.B.	71,2	34,6
144. T.V.	189,2	28,2
145. L.A.	125,7	25,0
146. L.T.	267,3	36,2
147. G.Q.	176,4	22,4
148. P.S.	162,1	36,2
149. G.P.	288,7	33,5

Name	Aktivität (U/l Serum)	EDTA 10 ⁻³ m
		Aktivität (U/l Serum)
150. G.S.	199,8	37,2
151. G.P.	287,7	31,9
152. G.V.	290,2	29,8
153. L.V.	241,8	43,1
154. L.S.	247,6	44,1
155. L.T.	211,1	38,3
156. L.T.	250,8	43,1
157. N.T.	145,6	39,4
158. N.M.	245,9	36,7
159. T.Q.	240,2	40,4
160. Q. T.	288,6	15,4
161. H.V.	270,0	35,6
162. H.V.	253,5	14,4

VI. AUSWERTUNG DER UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

Die ohne EDTA gemessenen Aktivitäten der menschlichen Serum-Paraoxonase aller 162 vietnamesischen Personen gibt Abb. 10 wieder. Es zeigt sich ein starker mittlerer Aktivitätsbereich zwischen 140 und 300 U/l, ein kleiner niedriger Aktivitätsbereich zwischen 60 und 80 U/l und sehr wenig hohe Paraoxonaseaktivitäten zwischen 360 und 380 U/l. Der Mittelwert liegt bei 207 U/l.

Die mit EDTA-Zusatz gemessenen Serumproben liefern Paraoxonaseaktivitäten zwischen 5 und 55 U/l, der Mittelwert liegt bei $3\frac{1}{4}$ U/l. Das Histogramm zeigt angenäherte Normalverteilung mit einem Gipfel bei 35 - 40 U/l (Abb. 11).

Bei Prüfung der Korrelation der Paraoxonaseaktivität ohne und mit EDTA im Meßansatz ergibt weder die graphische Darstellung (Abb. 12) noch der Korrelationskoeffizient von $+ 0,0209$ einen Hinweis auf eine Korrelation zwischen der ohne EDTA-Zusatz gemessenen Paraoxonaseaktivität und der nicht durch EDTA hemmbaren Restaktivität.

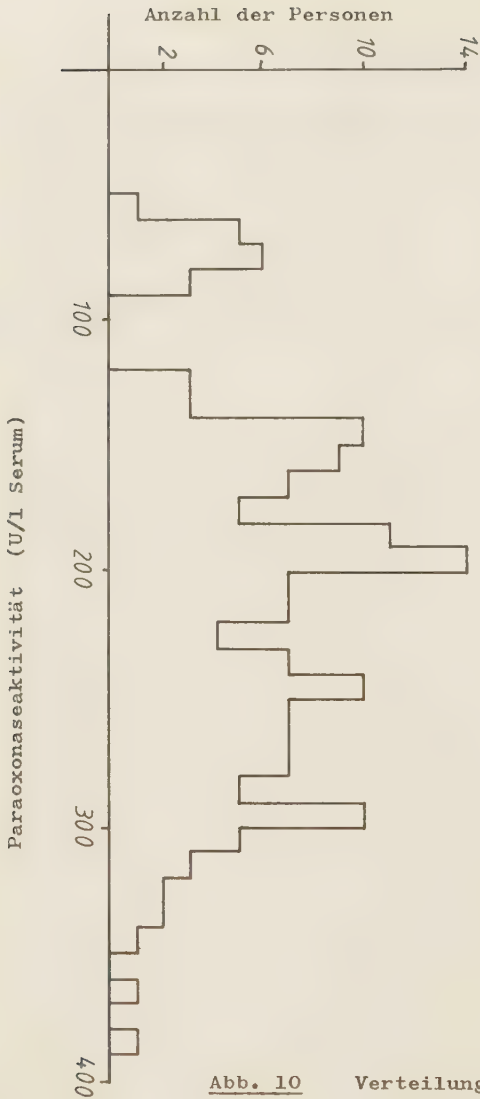
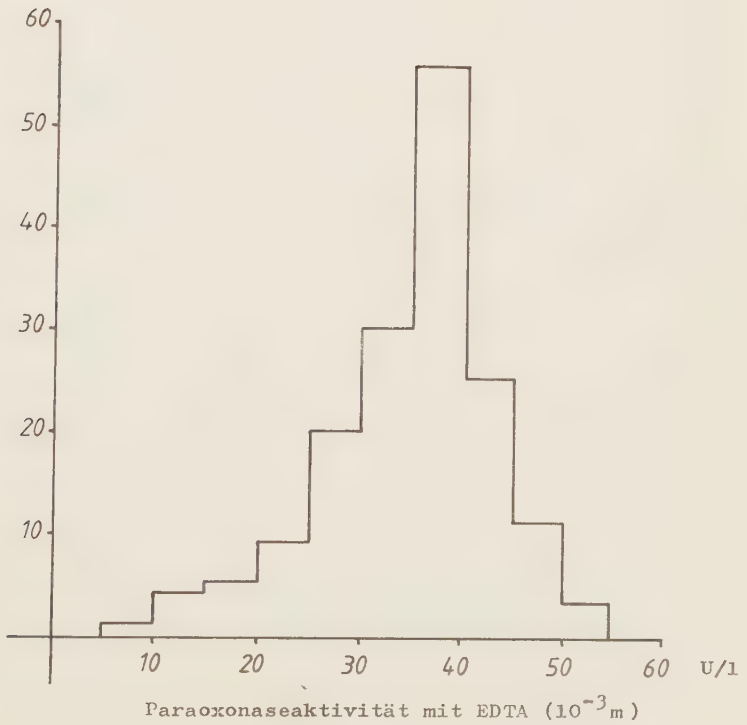


Abb. 10

Verteilung der Paraoxonaseaktivitäten
bei 162 Vietnamesen in U/l Serum

Abb. 11 Verteilung der nicht EDTA-hemmbaren
Paraoxonaseaktivität bei 162 Vietnamesen

Anzahl der
Personen



VII. DISKUSSION

ERDÖS und BOGGS (1961) fanden nach EDTA-Zugabe im menschlichen Serum eine Hemmung der Paraoxon spaltenden Aktivität der Arylesterase. Sie erhielten eine Restaktivität, die möglicherweise durch ein eigenes Enzym bedingt ist. Nach Zugabe von EDTA und Aurintricarbonsäure zu menschlichem Serum war die Paraoxonspaltung vollständig blockiert. In der Cohn-Fraktion IV - I aus menschlichem Serum konnte die Paraoxonhydrolyse mit EDTA, jedoch nicht mit Aurintricarbonsäure gehemmt werden, während in der Albuminfraktion V EDTA ohne Einfluß blieb und bei Zugabe von Aurintricarbonsäure keine Hydrolyse stattfand. Die Untersuchung der Albuminfraktion verschiedener Säugetiere zeigte gleichfalls eine beträchtliche Aktivität der Paraoxonhydrolyse.

Auch SKRINJARIC-SPOLJAR (1968) und Mitarbeiter untersuchten die menschlichen Cohn-Fraktionen IV-I und V und bestätigen die Annahme, daß mehr als ein Enzym für die Hydrolyse von Paraoxon verantwortlich ist.

Ebenfalls 1968 veröffentlichte KRISCH eine Arbeit über die Hemmbarkeit der menschlichen Serumparaoxonase durch EDTA (10^{-3} M um 45 %).

HECHTL (1980) konnte an je 5 westdeutschen Personen aller drei Aktivitätstypen die Serumparaoxonase mit einer EDTA-Konzentration von 1×10^{-4} M auf 23-48 U/l hemmen. Eine Differenzierung der drei Paraoxonasetypen mit Hilfe von EDTA

als Hemmstoff war nicht möglich.

OMURO (1980) zeigte an 35 Seren japanischer Probanden aller Aktivitätstypen eine Hemmbarkeit der Paraoxonaseausgangsaktivität durch EDTA auf 2-35 U/l Restaktivität. Das Histogramm zeigte angenäherte Normalverteilung. Eine Korrelation zwischen Ausgangs- und Restaktivität ($r = + 0,0182$) konnte er nicht feststellen.

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit bestätigt sowohl in der graphischen Darstellung als auch rechnerisch, daß auch bei 162 Vietnamesen, vorwiegend chinesischer Abstammung, keine Korrelation ($r = + 0,0209$) der Serum-Paraoxonaseausgangsaktivität und der nach EDTA-Hemmung verbleibenden Restaktivität besteht. Der breite mittlere Aktivitätsbereich der Serum-Paraoxonase ohne EDTA-Hemmung läßt vermuten, daß das früher angenommene 2-Allele-Modell wohl nicht mehr zutrifft (siehe auch OMURO 1980). Diese Befunde sprechen vielmehr für das Vorhandensein mindestens eines weiteren Allels, welches wahrscheinlich ein weiteres EDTA-empfindliches Enzym steuert. Dieses Enzym dürfte deshalb gleichfalls für die Restaktivität der Serum-Paraoxonase nicht verantwortlich sein.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALDRIDGE, W.N.:
Serumesterases. 1. Two types of esterases (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, proprionate and butyrate, and a method for their determination.
Biochem. J. 53, 110 (1953a)
2. ALDRIDGE, W.N.:
Serumesterases. 2. An enzyme hydrolysing diethyl-p-nitrophenyl phosphate (E 600) and its identity with the A-esterases of mammalian sera.
Biochem. J. 53, 117 (1953b)
3. BOYD, W.C.:
Anthropologie und Blutgruppen.
Klin. Wochenschr. 34, 993 (1956)
4. DUMBACH, J.:
Statistische Analyse zur Genetik der menschlichen Serumpaaxonase (E.C.3.1.1.2.)
Dissertation Erlangen 1976
5. EICKSTEDT von, E.:
Rassenkunde und Rassengeschichte der Menschheit.
Enke, Stuttgart 1934
6. ERDÖS, E.G., L.E. BOGGS:
Hydrolysis of Paraoxon in mammalian blood.
Nature 190, 716 (1961)
7. ERDÖS, E.G., C.R. DEBAY, M.P. WESTERMANN:
Activation and inhibition of the arylesterase of human serum.
Nature 184, 430 (1959)

8. GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M., H.H. LINDORF, M. PETENY,
M. FLÜGEL, TH. FISCHER, TH. HILLER:
Genetisch determinierter Polymorphismus der menschli-
chen Serum-Paraoxonase (EC 3.1.1.2.).
Humangenetik 17, 331 (1973a)
9. GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M., M. PETENY, H. METZNER,
H. BURGIS, B. DIETZEL, H. NIRSCHL, O. RENNER:
Zur Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase.
Z. Physiol. Chem. 354, 337 (1973b)
10. GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M., G. HOMMEL, J. DUMBACH:
On the genetics of human serum paraoxonase (EC 3.1.1.2.).
Humangenetik 50, 313 (1979)
11. GLOWATZKI, G.:
Die Rassen des Menschen.
Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1976
12. HECHTEL, R.:
Die Hemmung der menschlichen Serum-Paraoxonase
durch EDTA.
Dissertation Erlangen 1980
13. JANDER, G., E. BLASIUS:
Einführung in das organisch chemische Praktikum.
S. Hirzel, Stuttgart 1973
14. KRISCH, K.:
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenyl-
phosphat durch menschliches Serum.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 6, 41 (1968)

15. MARTON, A.V., W. KALOW:
Inhibitors of aromatic esterase of human serum.
Biochem. Pharmacol. 2, 149 (1960)
16. MENZEL, W.:
Die Serumarylesterasen (EC 3.1.1.2.) in der Literatur
von 1942 - 1971.
Dissertation Erlangen 1978
17. MAIN, A.R.:
The purification of the enzyme hydrolysing diethyl-
p-nitrophenyl phosphate (paraoxon) in sheep serum.
Biochem. H. 74, 10 (1960a)
18. MAIN, A.R.:
The differentiation of the A-type esterases in
sheep serum.
Biochem. J. 75, 188 (1960b)
19. MOESCHLIN, S.:
Klinik und Therapie der Vergiftungen.
Thieme, Stuttgart 1972
20. NEAL, R.A.:
Enzymic mechanism of metabolism of the phosphoro-
thioate insecticides.
Arch. Intern. Med. 128, 118 (1971)
21. OMURO, O.:
Serum-Paraoxonase-Polymorphismus in Japan.
Dissertation Erlangen 1980

22. PLAYFER, J.R., L.C. EZE, M.F. BULLEN, D.A.P. EVANS:
Genetic polymorphism and interethnic variability of
plasma paraoxonase activity.
J. Med. Gen. 13, 337 (1976)
23. POORE, R.E., R.A. NEAL:
Evidence for extrahepatic metabolism of parathion.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 23, 759 (1972)
24. SCHWIDETZKY, I.:
Die neue Rassenkunde.
Fischer, Stuttgart 1962
25. SCHWIDETZKY, I.:
Grundlagen der Rassensystematik.
Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich 1974
26. Schwidetzky, I.:
Rassen und Rassenbildung beim Menschen.
Fischer, Stuttgart 1979
27. SKRINJARIC-SPOLJAR, M., E. REINER:
Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenylphosphate and
ethyl-p-nitrophenylphosphate by human sera.
Biochem. Biophys. Acta 165, 289 (1968)
28. ZECH, R., K. ZÜRCHER:
Organophosphate splitting serum enzymes in
different mammals.
Comp. Biochem. Physiol. (B) 48, 427 (1974)

Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling danke ich
für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut
und für die Übernahme des Korreferates.

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr.
M. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung
des Themas, die zahlreichen Anregungen und für
die große Hilfsbereitschaft die mir die Fertig-
stellung dieser Arbeit erleichterten.

Lebenslauf

Name : Christine Hieronymus

Geburtsdatum : 23. 12. 1953

Geburtsort : Erlangen

Staats-
angehörigkeit : Deutsch

Eltern : Wilhelm Hieronymus, Ingenieur
und Ehefrau Gisela geb. Numrich

Schul-
ausbildung : 1960 - 1964 Grundschule, Erlangen
1964 - 1973 Gymnasium, Erlangen
1973 Abitur

Studium : 1973/WS Studium der Biologie, Physik und
Chemie an der Friedrich-Alexander-
Universität in Erlangen
1974/SS Studium der Zahnmedizin an der
Friedrich-Alexander-Universität
in Erlangen
1979 Staatsexamen im September
Anschließend Vorbereitung und Durch-
führung der experimentellen Disser-
tation

Bisherige
Tätigkeit : Seit April 1980 Assistenz-Zahnärztin in einer
Nürnberger Zahnarztpraxis

Einleitung

1. Die Bedeutung der Arbeit

2. Die Aufgaben der Arbeit

3. Die Organisation der Arbeit

4. Die Methoden der Arbeit

5. Die Ergebnisse der Arbeit

6. Die Bedeutung der Arbeit

7. Die Aufgaben der Arbeit

8. Die Organisation der Arbeit

9. Die Methoden der Arbeit

10. Die Ergebnisse der Arbeit

11. Die Bedeutung der Arbeit

12. Die Aufgaben der Arbeit

13. Die Organisation der Arbeit

14. Die Methoden der Arbeit

15. Die Ergebnisse der Arbeit

16. Die Bedeutung der Arbeit

17. Die Aufgaben der Arbeit

18. Die Organisation der Arbeit

19. Die Methoden der Arbeit

20. Die Ergebnisse der Arbeit

21. Die Bedeutung der Arbeit

22. Die Aufgaben der Arbeit

23. Die Organisation der Arbeit

